



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América
Facultad de Farmacia y Bioquímica
Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica

**Frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne
molida y fresa en el mercado mayorista “La Parada”**

TESIS

Para optar el Título Profesional de Químico Farmacéutico

AUTOR

Mónica Magaly MOLLEDA ROMÁN

ASESOR

Mirtha ROQUE ALCARRAZ

Lima, Perú

2016



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Molleda M. Frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista “La Parada” [Tesis de pregrado]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica; 2016.



UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS
(Universidad del Perú, DECANA DE AMÉRICA)
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA
DECANATO



ACTA DE SUSTENTACIÓN DE TESIS

Los Miembros del Jurado Examinador y Calificador de la Tesis titulada:

“Frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista “La Parada”

Que presenta la Bachiller en Farmacia y Bioquímica:

MÓNICA MAGALY MOLLEDA ROMÁN

Que reunidos en la fecha se llevó a cabo la SUSTENTACIÓN de la TESIS, y después de las respuestas satisfactorias a las preguntas y objeciones formuladas por el Jurado, y practicada la votación ha obtenido la siguiente calificación:

Diecisiete (17) Sobresaliente

en conformidad con el Art. 34.º del Reglamento para la obtención del Grado Académico de Bachiller en Farmacia y Bioquímica y Título Profesional de Químico Farmacéutico de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Lima, 20 de enero del 2016

[Firma]
Dr. Victor Crispin Pérez
Presidente

[Firma]
Dra. Gladys Constanza Arias Arroyo
Miembro

[Firma]
Q.F. Teresa Celina Gallardo Jugo
Miembro

[Firma]
Mgtr. Julio Reynaldo Ruiz Quiroz
Miembro

“FARMACIA ES LA PROFESIÓN DEL MEDICAMENTO, DEL ALIMENTO Y DEL TÓXICO”

Jr. Puno N° 1002, Jardín Botánico - Lima 1 - Perú
Telfs.: (511) 328-4737 / 328-4739 Fax: (511) 619-7000 anexo 4819 Ap. Postal 4559 - Lima 1
E-mail: decanofyb@unmsm.edu.pe <http://farmacia.unmsm.edu.pe>

ISO 9001

BUREAU VERITAS
Certification

N° BR233265



A Dios y a mis padres (Magna y Rufino).

A mis abuelos, mis hermanos y tíos,
Por su constante apoyo en todo este proceso.

A la doctora Mirtha,
por su apoyo, consejos, enseñanzas y paciencia.

A mis amigos, en especial a Ericka, Linda y Edison, por
el apoyo e incentivo en el desarrollo y culminación
del presente trabajo.

Un millón de gracias a cada uno de Ud.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN.....	7
SUMMARY	8
I. INTRODUCCIÓN	9
1.1 Objetivo general	10
1.2 Objetivo específico	10
II. GENERALIDADES	11
2.1 Las EDA y la situación de vulnerabilidad en el Perú	11
2.2 Fresa y la importancia de su consumo	15
2.3 Queso y la importancia de su consumo	17
2.4 Carne y la importancia de su consumo	18
2.5 Características de enterobacterias	19
2.6 Factores de virulencia	21
2.7 Bacterias coliformes	22
2.7.1 <i>Enterobacteriaceae</i> y su rol como organismos indicadores en alimentos	23
2.8 Características generales de las enterobacterias patógenas que con mayor frecuencia se aíslan de alimentos	25
2.8.1 <i>Escherichia coli</i>	25
2.8.1.1 Estructura antigénica	27
2.8.1.2 Clasificación	27
2.8.2 <i>Salmonella spp.</i>	29
2.8.2.1 Estructura antigénica	29
2.8.3 <i>Shigella</i>	30
2.8.3.1 Estructura antigénica	31

2.8.4 <i>Enterobacter</i>	31
2.8.5 <i>Yersinia</i>	32
2.9 Ecología y alimentos implicados (queso fresco, carne molida y fresa)	33
III. PARTE EXPERIMENTAL	
3.1 Materiales y métodos	39
3.1.1 Material Biológico.....	39
3.1.2 Tamaño de muestra y muestreo.....	39
3.1.3 Transporte de muestras.....	40
3.1.4 Lugar de ejecución.....	40
3.1.5 Diseño.....	40
3.1.6 Metodología de trabajo	41
3.1.6.1 Recuento de <i>Enterobacteriaceae</i> según ICMSF	41
3.1.6.1.1 Preparación y dilución de los homogenizados de muestras	41
3.1.6.1.2 Recuento por siembra en placa	42
3.1.6.2 Pruebas de identificación bioquímica	43
IV. RESULTADOS	45
V. DISCUSIÓN.....	53
VI. CONCLUSIONES	55
VII. RECOMENDACIONES.....	56
VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	57
IX. ANEXOS	
9.1 Anexo 1. Materiales de laboratorio.....	66
9.2 Anexo 2. Agar Mac Conkey mas glucosa	67

LISTA DE FIGURAS

Pág.

Figura 1: Imagen de la calle San Pablo en el mercado La Parada.....	11
Figura 2: Enfermedad Diarreica Aguda (acuosa + disentérica) por grupos de edad, Perú 2009 – 2014 hasta la semana 36.	14
Figura 3: Jerarquía de 17 Alimentos básicos utilizados en el análisis del brote.....	34
Figura 4: Porcentaje de muestras recolectadas: queso fresco, carne molida y fresa fresca	46
Figura 5: Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en queso fresco, carne molida y fresa fresca.....	50
Figura 6: Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en queso fresco.....	50
Figura 7: Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en carne molida	51
Figura 8: Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en fresa	51
Figura 9: Identificación de enterobacterias Vs alimentos analizados	52

LISTA DE TABLAS

Pág.

Tabla 1: Número de Casos y Tasas de notificación de Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAs), por grupo de edad y departamento. Perú 2014.....	13
Tabla 2: Las principales enterobacterias patógenas transmitidos por los alimentos	36
Tabla 3: Determinación de muestras recolectadas del mercado mayorista La Parada Lima – Perú	45
Tabla 4: Lectura de recuento de enterobacterias.	47
Tabla 5: Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas.	49

RESUMEN

La calidad microbiológica de los alimentos es esencial para asegurar la disponibilidad de un producto inócuo y de alta calidad para el consumidor. Los alimentos expendidos con alta contaminación; a consecuencia de diversos factores como inadecuada manipulación en las diversas etapas, convierten a los lácteos como el queso fresco, derivados cárnicos como carne molida y frutas rastreras como fresas; en alimentos de alto riesgo, asociados a brotes epidémicos de diarrea. Entre los patógenos que pueden ser transportados por alimentos se encuentran las enterobacterias del género *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* entre las mas frecuentes. El presente trabajo de investigación tuvo como objetivo determinar la frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista La Parada en el periodo Marzo - Junio 2012, determinar el porcentaje de *Enterobacteriaceae* coliformes y no coliformes; y determinar en las muestras analizadas el alimento en el que predomina *Escherichia coli*. Se recolectaron en total 50 muestras, 17 de queso fresco, 17 de carne molida y 16 de fresa (*Fragaria vesca*) en La Parada. Las muestras fueron analizadas según metodología del ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) y pruebas bioquímicas. En el estudio se encontró que del total de muestras analizadas 66% tienen *Escherichia coli*, 12% *Enterobacter*, 4% *Shigella* y 18% otras enterobacterias. Además, del total de *Enterobacteriaceae* halladas en las muestras 78% son coliformes y 22% no coliformes. Referente a la prevalencia de *Escherichia coli* en los alimentos analizados, se halló 82% de *Escherichia coli* en carne molida.

Palabras clave: enterobacterias, *Escherichia coli*, queso, carne molida, fresa, mercado La Parada

SUMMARY

The microbiological quality of food is essential to ensure the availability of an innocuous and high quality product to the consumer. Vended foods with high pollution; as a result of various factors such as improper handling at various stages, converted to dairy like cheese, meat products such as ground beef and creeping fruits like strawberries; in high-risk foods associated with outbreaks of diarrhea. Among the pathogens that may be carried by foods include *Enterobacteriaceae* of the gender *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* among the most frequent. El present research had as objective to determine the frequency of *Enterobacteriaceae* in fresh cheese, ground beef and strawberry in the wholesale market La Parada in the period March - June 2012, determine the percentage of coliforms and no coliforms *Enterobacteriaceae*; and determine in the analyzed samples the food in that prevail *Escherichia coli*. Has been colleted a total of 50 samples, 17 of fresh cheese, 17 of ground beef and 16 of strawberry (*Fragaria vesca*) from La Parada. The samples were analyzed according to the methodology of the ICMSF (International Commission on Microbiological Specifications for Foods) and biochemistry tests. In the study has been found that total of analyzed samples 66% have *Escherichia coli*, 12% *Enterobacter*, 4% *Shigella* and 18% others *Enterobacteriaceae*. In addition, of the total of *Enterobacteriaceae* found in the samples 78% are coliforms and 22% no coliforms. Regarding the prevalence of *Escherichia coli* in the analyzed samples, has been found 82% de *Escherichia coli* in ground beef.

Keywords: Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, cheese, ground beef, strawberry, market La Parada

I. INTRODUCCIÓN

En el Perú, mediante el Sistema de Vigilancia Epidemiológica, entre los años 2010 al 2012 se han reportado un promedio de 35 brotes de ETAs (enfermedades transmitidas por alimentos) por año; el total de personas afectadas fueron 2800 y, el 51% de los brotes reportados tuvieron entre 10 a 50 afectados en promedio¹.

Los alimentos pueden contener bacterias cuando el consumidor los compra. La carne cruda puede contaminarse mientras se sacrifican y preparan la canal del animal. Las frutas y las verduras pueden contaminarse mientras crecen o se procesan. También puede ocurrir en la cocina, si se deja los alimentos a temperatura ambiente más de 2 horas. Manipular los alimentos con cuidado puede prevenir numerosas enfermedades². Las enfermedades transmitidas por alimentos (ETA) son un problema de salud pública generalizado y creciente, tanto en los países desarrollados, como en los que están en vías de desarrollo³, impactando especialmente la población en condiciones de vulnerabilidad, niños, mujeres embarazadas y adultos mayores. La mayoría de las infecciones transmitidas por los alimentos comúnmente reconocidas son las ocasionadas por las bacterias *Campylobacter*, *Salmonella*, *Escherichia coli* y por un grupo de virus llamados calicivirus⁴. La alta prevalencia de enfermedades diarreicas en muchos países en desarrollo sugiere que los principales problemas de fondo son de seguridad alimentaria³.

En el año 2003, se realizó una evaluación bacteriológica en muestras de queso fresco recolectadas en siete mercados municipales del distrito Pueblo Libre, Lima - Perú; en la

cual concluyeron que los resultados evidencian condiciones higiénicas deficientes y el incumplimiento de las normas y regulaciones sanitarias vigentes, esto es debido a las altas cargas de coliformes totales que evidenciaron la contaminación de queso ya sea por la materia prima utilizada, por fallas en el proceso de elaboración o almacenamiento antes de la venta al consumidor⁵. Otro estudio realizado en el año 2005 en verduras frescas recolectadas en cuatro mercados de Lima Metropolitana (La Parada, Ramón Castilla, Ceres y Caqueta) concluyó que las verduras frescas recolectadas de los mercados La Parada y Ceres presentaban mayor porcentaje de contaminación con coliformes fecales⁶.

En el Perú, donde solo el 38% de hogares tiene acceso a agua libre de coliformes fecales⁷ y se ha demostrado la presencia de patógenos bacterianos y parasitarios en alimentos tanto en la capital como provincias; las ETA son, indudablemente, un importante problema de salud pública debido a que se ha descrito que el 70% de las diarreas se originan por la ingestión de alimentos contaminados con microorganismos y/o toxinas^{8,9}.

Motivados por esta problemática se realizó el presente trabajo de investigación recolectando muestras del mercado mayorista La Parada, ubicado en las intersecciones de las avenidas Bausate y Meza, San Pablo, Humboldt y Aviación, distrito de La Victoria, Lima, ya que este mercado es uno de los principales abastecedores de alimentos de Lima Metropolitana. Los objetivos del presente trabajo se describen a continuación:

1.1. Objetivo General

- Determinar la frecuencia de enterobacterias en queso fresco, carne molida y fresa en el mercado mayorista La Parada en el periodo Marzo – Junio 2012.

1.2. Objetivos específicos

- Determinar el porcentaje de *Enterobacteriaceae* coliformes y no coliformes en los alimentos analizados del mercado mayorista La Parada.
- Determinar en las muestras analizadas el alimento en el que predomina *Escherichia coli*.

II. GENERALIDADES

2.1 Las EDA y la situación de vulnerabilidad en el Perú

Unas 30 toneladas diarias de basura produce el mercado mayorista de La Parada, ubicado en La Victoria, por lo que genera un entorno de insalubridad. De La Parada salen los alimentos para el 70 % de los mercados de Lima y de ese ambiente, con condiciones higiénicas deplorables, se alimenta la población (Ver figura 1)¹⁰.



Figura 1: Imagen de la calle San Pablo en el mercado La Parada¹⁰.

El mercado mayorista cumplía con la función de acopio, fraccionamiento y distribución para satisfacer las necesidades comerciales de los comerciantes minoristas. El destino final de los productos alimenticios agrícolas perecederos ingresados a Lima Metropolitana y el Callao, era el consumo directo dentro del hogar, institucional, para la industria, y también la reexpedición a otras ciudades del país; y el principal mercado mayorista era La Parada hasta setiembre 2012. Debido a la antigüedad de este mercado, el mercadeo mayorista de alimentos se desarrolló en infraestructuras pequeñas, obsoletas y mal ubicadas que hacían imposible mejorar las funciones económicas y físicas que debían cumplirse en los mercados mayoristas. Esta situación configuró una problemática caracterizada principalmente por distorsión en la formación de los precios, tugurización, hacinamiento, pérdidas de productos por mermas, congestión del tránsito, acumulación de basura y falta de higiene en general perjudicando a productores, transportistas, comerciantes mayoristas, minoristas, consumidores en general y familias que trabajaban y vivían en la zona de influencia⁶. A fines de setiembre 2012 se realizó la mudanza de los comerciantes de La Parada hacia el nuevo mercado mayorista de Santa Anita.

Según lo informado en el Boletín Epidemiológico de Febrero 2012, las enfermedades diarreicas agudas continúan siendo uno de los principales problemas de salud pública en los países en desarrollo, constituyen una de las causas principales de mortalidad y morbilidad en el mundo, afectan a todos los grupos de edad, pero los más afectados son los niños menores de 5 años, específicamente en zonas con condiciones de pobreza. En la región de las Américas, las enfermedades diarreicas se encuentran entre las cinco primeras causas de muerte en todas las edades en 17 países. En el Perú se ha registrado hasta la semana epidemiológica 5 (del 29 de enero al 4 de febrero) del año 2012, 105,321 episodios de enfermedades diarreicas agudas (95 % como EDA acuosa), y

cuya tasa de incidencia durante ese periodo fue de 34 episodios por cada 10 mil habitantes, valor menor registrado en los últimos 3 años, lo cual evidencia una tendencia decreciente de las EDAs¹¹.

Por otra parte, según el cuadro estadístico del MINSA, en el Perú la tasa de notificaciones de enfermedades diarreicas es del 22.92 por cada mil habitantes (Ver tabla 1) lo cual representaría a un total de 698 330 casos de Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAs). En la figura 2 podemos ver que hay una ligera disminución entre el número de episodios de EDAs reportados en el 2009 con respecto al 2014¹².

Tabla 1: Número de Casos y Tasas de notificación de Enfermedades Diarreicas Agudas (EDAs), por grupo de edad y departamento. Perú 2014¹².

DEPARTAMENTO	EDA Total		EDA < 5 años		EDA > 5 años	
	Caso	Tasa	caso	Tasa	caso	Tasa
AMAZONAS	23072	55.0	11456	248.8	11616	31.1
ANCASH	31850	28.0	14723	130.8	17127	16.7
APURIMAC	9754	21.5	4850	93.6	4904	12.2
AREQUIPA	56917	45.2	26021	251.1	30896	26.7
AYACUCHO	14014	20.8	7579	96.7	6435	10.8
CAJAMARCA	22450	14.8	13059	81.8	9391	6.9
CALLAO	29843	30.4	10888	139.0	18955	21.0
CUSCO	28070	21.6	14276	111.4	13794	11.8
HUANCAVELICA	14204	29.1	6995	104.2	7209	17.1
HUÁNUCO	17758	20.9	9855	102.9	7903	10.5
ICA	14660	19.0	7498	109.1	7162	10.2
JUNÍN	24038	18.1	13413	93.7	10625	8.9
LA LIBERTAD	45876	25.3	18796	108.8	27080	16.5
LAMBAYEQUE	28518	23.0	12156	109.5	16362	14.5
LIMA	162826	17.1	72401	91.2	90425	10.3
LORETO	40291	39.6	24154	205.6	16137	17.9
MADRE DE DIOS	5025	38.4	3272	248.8	1753	14.9
MOQUEGUA	11453	64.8	3696	271.4	7757	47.6
PASCO	16285	56.4	7419	244.7	8866	34.3
PIURA	39612	21.8	19490	104.1	20122	12.4
PUNO	11047	7.9	6967	47.1	4080	3.3
SAN MARTIN	11104	13.6	6561	79.2	4543	6.2
TACNA	15398	46.2	5722	199.5	9676	31.8

TUMBES	3689	15.9	1916	93.8	1773	8.4
UCAYALI	20576	42.5	11680	247.7	8896	20.4
Total	698330	22.9	334843	115.4	363487	13.2

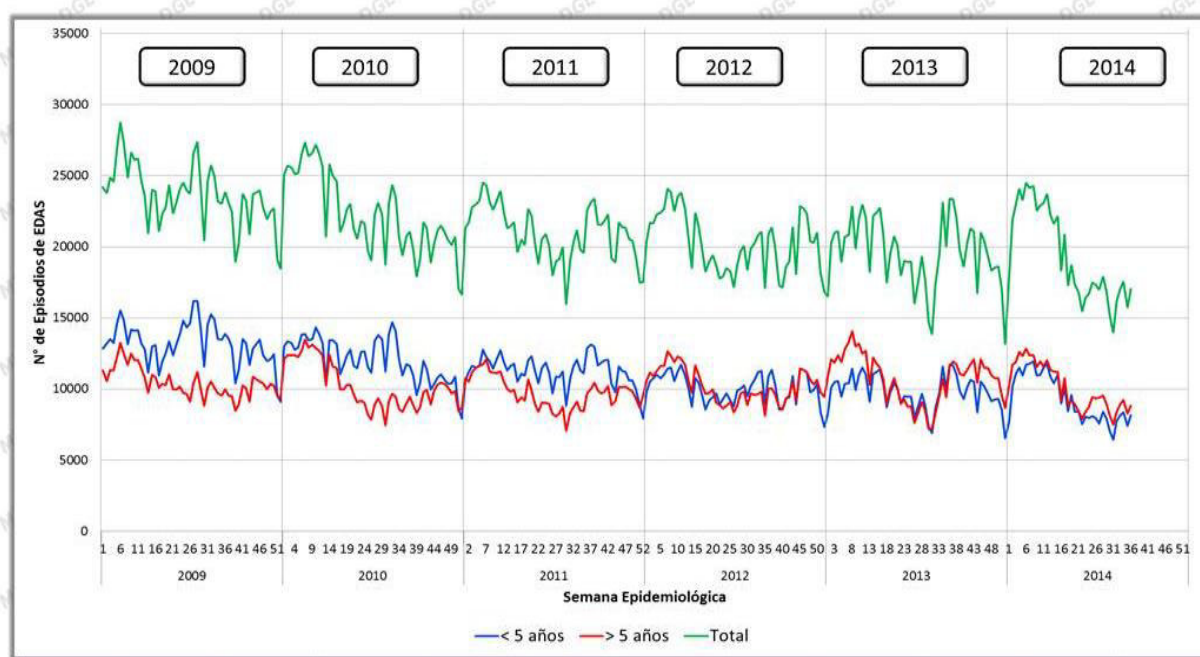


Figura 2: Enfermedad Diarreica Aguda (acuosa + disentérica) por grupos de edad, Perú 2009 – 2014 hasta la semana 36¹².

La severidad de las ETAs está en función de la salud del individuo, el tipo y la cantidad del agente tóxico o microbiológico recibido y, en algunos casos, a la exposición previa al agente. Debido a la naturaleza de las enfermedades transmitidas por alimentos la población que se encuentra en una mayor situación de riesgo es aquella que está constantemente expuesta a alimentos potencialmente contaminados, ya sea por necesidad o por falta de información, y que por su estado de salud, aunque no necesariamente enferma, puede tener el sistema inmunológico comprometido. Esta población comprende, por lo general, a individuos pertenecientes a los estratos sociales más bajos que se ven forzados a consumir alimentos de inocuidad dudosa o por aquellos

que deciden, concientemente o no, consumir estos productos; por aquellos que presentan un sistema inmunológico reprimido o inmaduro incluyendo niños, ancianos y mujeres embarazadas o aquellos que están inmunocomprometidos por enfermedades o medicamentos como es el caso de la quimioterapia para los pacientes de cáncer¹³.

2.2 Fresa y la importancia de su consumo

En países como EE.UU., debido al auge de algunas enfermedades ligadas a excesos o desequilibrios en la dieta, el mayor consumo de frutas y vegetales está ampliamente recomendado^{6,14}. El consumo de frutas frescas es parte importante de una dieta saludable, desde el punto de vista microbiológico son alimentos comparativamente de menor riesgo que las carnes y los productos lácteos. Sin embargo, al ser consumidos sin ningún tipo de cocción, son potencialmente peligrosos en caso de que exista contaminación¹⁵.

De la producción mundial de frutas finas "frutos rojo" (fresa, frambuesa, mora y arándano), la fresa superó en el 2013 el 62% de la producción de este grupo, en un área cultivada de 254.027 hectáreas que representan una producción aproximada de 5 millones de toneladas¹⁶. En Perú, según datos estadísticos del EMMSA (Empresa Municipal de Mercados S.A.), entre Noviembre 2012 y Noviembre 2014, ha habido un porcentaje de ingreso por giro de 49.368% de hortalizas y un 1.994 % por ciento de ingreso por giro de frutas (de las cuales un 0.358 por ciento fue de **fresa**)¹⁷.

En Julio 2007, el boletín electrónico del CEMTRUM publicó que la alta demanda de la fresa está asociada a la repostería, gracias a ello la fresa está ganando cada vez mayor

número adeptos en el mercado internacional debido a propiedades benéficas que la han catalogado como un elemento ideal en los regímenes dietéticos: posee bajos niveles de azúcar, es antioxidante, estimula el crecimiento celular y regenera huesos, cabello y piel, además de reforzar el sistema inmune (vitamina C) y favorecer la eliminación de líquidos (es rica en potasio), entre otros. Perú destinaba en el año 2007 más de 2,000 hectáreas para el cultivo de fresas, y aunque Lima concentra en la actualidad el 90% (entre Huaral, Chancay, Huaura, Barranca y Cañete), tiene un potencial de producción que se extiende a todos los valles de la costa¹⁸.

En Agosto 2014, el diario Gestión público que las agroexportaciones de frutas y hortalizas del Perú creció en un 34 % en el primer semestre, Dentro de las frutas que están en crecimiento figuran los melones, **fresas**, chirimoyas, higos, dátiles frescos, duraznos e incluso manzanas frescas, que de las dos toneladas colocadas a junio de 2013 han pasado a 543 toneladas a junio de 2014¹⁹.

En los últimos años se ha detectado un mayor número de enfermedades transmitidas por frutas y hortalizas, la información disponible muestra que es un problema que crece en importancia. Los riesgos biológicos asociados a los productos hortícolas como la fresa están relacionados con las malas prácticas de producción, como el empleo de agua de riego contaminada, el uso de desechos biológicos sólidos como fertilizante sin tratamiento o con tratamiento inapropiado, la presencia de animales en las áreas de cultivo, la proximidad a zonas de acumulación de aguas de desagüe, una inadecuada higiene de las instalaciones, entre otros¹⁵. Un estudio realizado en Huacho en el 2010, nos indica que la población promedio de Coliformes fecales que se encontró en fresa sobrepasa el límite

máximo permitido por el Ministerio de Salud para frutas y verduras que es de 10 a 10^2 ufc/g²⁰.

2.3 Queso y la importancia de su consumo

El Sistema de Información Regional para la Vigilancia Epidemiológica de las Enfermedades Transmitidas por Alimentos, del Instituto Panamericano de Protección de Alimentos y Zoonosis (INPPAZ), informó que en el Perú entre los años 1993 y 2001 se registraron 12 brotes de enfermedades producidas por el consumo de productos lácteos, los cuales comprendieron 11,5% del total de casos de enfermedades transmitidas por alimentos en esos años⁵. En general, 58,7% de los brotes fueron causados por bacterias. Por otra parte, la leche constituye un excelente sustrato para la proliferación de microorganismos debido a su alto contenido de nutrientes⁵.

Por ello, es de importancia fundamental determinar la calidad higiénica y sanitaria de la leche y sus derivados, entre ellos el queso por ser uno de los de mayor consumo popular. De acuerdo con la Norma Técnica Peruana (NTP), el queso fresco es el producto sin madurar obtenido por separación del suero después de la coagulación de la leche cruda o reconstituida, pasteurizada, entera o parcialmente descremada, o de una mezcla de estos productos, y que cumple con los requisitos especificados en esa norma (generales: color, forma, corteza, pasta, composición; Fisicoquímicos; aditivos alimentarios permitidos; microbiológicos; y temperatura de conservación)⁵.

Los quesos hechos con leche sin pasteurizar parecen estar asociados con brotes de intoxicaciones alimentarias con mayor frecuencia que los fabricados a partir de leche pasteurizada, aunque estos también pueden ocasionar toxiinfecciones por una inadecuada pasteurización de la leche o porque el queso hecho de leche pasteurizada se contamina posteriormente con microorganismos patógenos^{5,21}.

Las aminas biógenas (tiramina, triptamina, histamina, feniletilamina, etc.) están presentes en bajas concentraciones en prácticamente todos los alimentos que contienen proteínas, como los productos lácteos. La concentración de estas aminas en los alimentos depende de las condiciones microbiológicas y bioquímicas del producto. Los alimentos que contienen muchas aminas biógenas pueden causar intoxicaciones, a veces graves. Los quesos están entre los alimentos con mayor contenido de aminas^{5,22}.

2.4 Carne y la importancia de su consumo

La carne puede formar parte de una dieta equilibrada, aportando valiosos nutrientes beneficiosos para la salud, esenciales para el crecimiento y desarrollo. La carne y los productos cárnicos contienen importantes niveles de proteínas, vitaminas, minerales y micronutrientes, esenciales para el crecimiento y el desarrollo²³.

El Codex Alimentarius define la carne como "todas las partes de un animal que han sido dictaminadas como inocuas y aptas para el consumo humano o se destinan para este fin". La carne se compone de agua, proteínas y aminoácidos, minerales, grasas y ácidos

grasos, vitaminas y otros componentes bioactivos, así como pequeñas cantidades de carbohidratos²⁴.

Un problema importante en higiene de los alimentos es la contaminación fecal de la carne res y la carne de pollo con *Enterobacteriaceae* tales como *Salmonella spp.*, *Escherichia coli*, *Proteus*, y especies de *Klebsiella*^{25,26}.

Enterobacteriaceae se distribuye ampliamente en la naturaleza y en el tracto gastrointestinal de los seres humanos, otros mamíferos y aves. Estudios previos sugieren que el aumento de esparcimiento de bacterias entéricas se asocia a factores de estrés durante el transporte de los animales y el cambio de la dieta antes del sacrificio. En algún momento en el procesamiento de la canal y de la manipulación, las bacterias entéricas en el intestino de los animales pueden contaminar las carnes y otras superficies con las que estas carnes entran en contacto. Otros estudios también han demostrado que las bacterias entéricas desarrollan resistencia a los antibióticos comunes utilizados en la medicina humana e incluso se ha demostrado que *Escherichia coli*, que se encuentra comúnmente en las carnes crudas, tiene el potencial para transferir resistencia a los antibióticos a otros organismos intestinales²⁷.

En un artículo publicado en el 2013 en la revista Poultry Science Association Inc. señala que el promedio de recuento viable de *Enterobacteriaceae* para pollo, pavo y carne fueron entre 3.26 a 4.94 log₁₀ ufc/g. Con la excepción de pavo y carne molida, en la cual hubo una tendencia de mayores niveles de contaminación de *Enterobacteriaceae* comparados con trozos de los correspondientes tipos de carne molida²⁷.

2.5 Características de enterobacterias

La familia *Enterobacteriaceae* constituye un grupo grande y heterogéneo de bacterias gramnegativas. Las principales características microbiológicas de la familia *Enterobacteriaceae*²⁸:

- Son anaerobios facultativos.
- Reducen los nitratos a nitritos (con algunas excepciones).
- No licuan el alginato.
- Fermentan la glucosa a ácido con producción de gas o sin ella.
- Son oxidasa-negativos, a excepción de *Plesiomonas*.
- Producen catalasa.
- No ven favorecido su crecimiento por la presencia de cloruro de sodio.
- La mayoría son móviles (con flagelos peritricos).

Las enterobacterias son microorganismos ampliamente distribuidos en plantas, tierras, agua e intestinos de hombres y animales, y se hallan entre los microorganismos más importantes desde el punto de vista médico. Algunos géneros son enteropatógenos humanos importantes (*Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*), mientras otros son colonizantes habituales del tracto gastrointestinal (*Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, etc.). Debido a su ubicuidad dentro y fuera del cuerpo, a menudo causan infecciones oportunistas en pacientes debilitados²⁹. Los miembros clínicamente importantes de la familia *Enterobacteriaceae* pueden considerarse en dos grupos: los grupos patógenos oportunistas y los patógenos manifiestos. *Salmonella typhi*, las especies de *Shigella* y *Y. pestis* se encuentran en este último grupo y son los agentes causales de la fiebre tifoidea, la disentería y la "peste negra", respectivamente. Estos microorganismos, así como otras

especies de *Salmonella*, producen varios factores de virulencia potentes y son capaces de provocar infecciones que pueden ser mortales. Los patógenos oportunistas mas frecuentes son especies de *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus* y *Serratia*. Aunque se les considera patógenos oportunistas, estos microorganismos producen factores de virulencia importantes, como endotoxinas, que pueden mediar infecciones mortales³⁰.

Las infecciones por enterobacterias se pueden originar a partir de un reservorio animal (por ejemplo, la mayoría de las especies de *Salmonella* y *Yersinia*), de un portador humano (por ejemplo, especies de *Shigella* y *Salmonella* serotipo Thyphi) o de la diseminación endógena de los microorganismos (por ejemplo, diseminación de *Escherichia coli*)³¹.

2.6 Factores de virulencia³²

Estas bacterias pueden tener o producir los siguientes elementos como factores de virulencia:

- **Endotoxinas:** como el lípido A, que son macromoléculas complejas que contienen fosfolípidos y lipopolisacáridos (LPS). Son constituyentes de la pared bacteriana y sólo se liberan cuando la célula muere y se lisa. Su toxicidad reside en la fracción del lípido A del LPS y su especificidad antigénica se localiza en la fracción polisacárida. En las enterobacterias, el lípido A siempre es el mismo y el polisacárido es variable, y da lugar a los centenares de antígenos O que aparecen en las distintas cepas. Los efectos de las endotoxinas incluyen: fiebre, leucopenia seguida de leucocitosis, activación del

complemento, trombocitopenia, coagulación intravascular diseminada, disminución de la circulación periférica y la perfusión de órganos importantes, choque endotóxico y muerte.

- **Cápsula:** fase protectora frente a fagocitos.
- **Exotoxinas:** casi todas son productos que funcionan como enterotoxinas y pueden ser termolábiles o termoestables.
- **Variación antigénica:** consiste en variar sus antígenos y con ello presentar una diferente presencia inmune para la identificación y respuesta del huésped.
- **Factores de adherencia:** entre otros, las fimbrias colaboran de manera importante para la adherencia de la bacteria a la superficie mucosa del huésped. El otro factor importante en este fenómeno de adherencia es la adhesina.
- **Localización intracelular:** protege a la bacteria de los antibióticos y del sistema inmune al estar localizada en el interior de la célula del huésped. Esta ubicación no es común en las enterobacterias, ya que son extracelulares, pero algunas pueden habitar por algún tiempo al interior de las células, ejemplo, las bacterias enteroinvasivas.
- **Bacteriocinas:** son sustancias bactericidas contra cepas de la misma especie, pero no contra sí misma, las principales son colicina y marcelina.

2.7 Bacterias coliformes

El término habitual coliformes comprende a *Escherichia coli* y a diversas especies pertenecientes a otros géneros de la familia *Enterobacteriaceae* como *Enterobacter*,

Klebsiella y *Citrobacter*. Este grupo de bacterias son capaces de fermentar la lactosa con producción de gas a 35° C en 48 h⁶.

Los coliformes son el grupo indicador con mayor tradición en microbiología sanitaria. Se trata de una definición totalmente convencional sin validez taxonómica, que pretende involucrar bacterias de habitud típicamente intestinal, si bien existen microorganismos que satisfacen la definición y que con frecuencia se localizan en ambientes extraintestinales. Su habitud natural es el contenido intestinal del hombre y animales superiores. En la materia fecal alcanzan cifras de 10^6 a 10^9 ufc/g. Debido a su capacidad de sobrevivencia y a su potencial para desarrollarse en la materia orgánica, pueden recuperarse de una diversidad de sustratos extraintestinales. Los alimentos no son la excepción y el hallazgo de coliformes puede estar determinado por contaminación seguida o no de activo desarrollo. Con excepción de *E. coli* ninguno de ellos indican contaminación fecal, ya que pueden encontrarse en el suelo, los vegetales y tener acceso a los alimentos. El género *Klebsiella* predomina en muestras obtenidas de medios forestales y de productos frescos de granja. La mayoría de hortalizas frescas examinadas presentan niveles de coliformes de 10^6 a 10^7 / g. Estos microorganismos suelen encontrarse en la leche fresca por contaminación de los conductos lactóforos³³.

2.7.1 *Enterobacteriaceae* y su rol como organismos indicadores en alimentos

Organismos indicadores son bacterias que se utilizan para proporcionar evidencia de una higiene pobre, inadecuado procesamiento o contaminación post-proceso de alimentos. A menudo son elegidos porque son relativamente rápida y sencilla de detectar. Su ausencia en alimentos proporciona un grado de seguridad de higiene y que el proceso de

fabricación de alimentos se ha llevado a cabo apropiadamente, mientras que su presencia usualmente indica un problema potencial u ocurrió una falla en el proceso. Las *Enterobacteriaceae* y bacterias coliformes dentro de esta familia representa dos de los grupos más comunes de organismo indicador utilizados por la industria alimentaria. Históricamente, los coliformes han sido el grupo indicador más común usado por la industria alimentaria, especialmente en el sector lácteo. En algunos países, en función de los requisitos normativos, la industria alimentaria ha evolucionado hacia las pruebas de *Enterobacteriaceae*. La capacidad de coliformes de fermentar la lactosa rápidamente se emplea a menudo por métodos convencionales de cultivo para su detección y enumeración. En consecuencia coliformes se definen a menudo por el método utilizado³⁴.

Los indicadores son grupos (o especies) de microorganismos cuya enumeración o recuento se realiza con facilidad y cuya presencia en los alimentos (en determinado número) indica si los productos estuvieron expuestos a condiciones que pudieran haber introducido organismos potencialmente patógenos y/o permitido la multiplicación de especies infecciosas o toxigénicas⁶.

El principal objetivo de la utilización de bacterias como indicadores de prácticas no sanitarias es revelar defectos de tratamiento que llevan consigo un peligro potencial, peligro que no está necesariamente presente en la muestra particular examinada, pero que es probable pueda encontrarse en muestras paralelas³⁴.

Los coliformes han sido considerados como indicadores; sin embargo, microorganismos del género *Enterobacter* se pueden encontrar también en el suelo, alcantarillas, agua, plantas, vegetales y alimentos de origen animal, por lo que rara vez se le reporta como

patógeno entérico. De igual modo, *Citrobacter freundii* es la especie bacteriana que más abunda en los alimentos, siendo frecuente en las superficies de las hortalizas y carnes frescas. *Klebsiella* también puede ser aislada en ambientes no asociados con la contaminación fecal, por lo que su presencia en los alimentos puede no estar determinada por este tipo de contaminación⁶.

Escherichia coli es la especie más asociada a materia fecal ya que su hábitat natural primario es el tracto intestinal del hombre y de los animales de sangre caliente, llegando a números que van de 10^5 a 10^9 microorganismos/g de heces. Por lo tanto, la presencia de este microorganismo en un alimento indica generalmente una contaminación directa o indirecta de origen fecal; y es el indicador clásico de posible presencia de patógenos entéricos en el agua, en los moluscos, en los productos lácteos y en otros alimentos³³.

La enumeración de *E. coli* y sus niveles detectados en los alimentos pueden estar influenciados por factores como la multiplicación del microorganismo, su muerte o inactivación o su adherencia a las partículas del alimento. En muchos casos, los recuentos de *Enterobacteriaceae* no guardan relación con la cuantía de la contaminación originada a partir de fuentes fecales, debido a que pueden multiplicarse en algunos alimentos mientras que tienden a disminuir en otros y en el agua. Con todo, la simple presencia de *E. coli* o un recuento de coliformes fecales indicará una contaminación fecal, sugiriendo una falta general de limpieza en el manejo del alimento y/o un almacenamiento inadecuado. Es importante destacar, que el hallazgo de *E. coli* en un alimento no constituye una connotación directa de la presencia de un patógeno, sino que implica únicamente un cierto riesgo de que pudiera estar presente; es decir, su hallazgo

no guarda siempre una estrecha correlación con la presencia de *Salmonellas* o de otros microorganismos patógenos⁶.

2.8 Características generales de las enterobacterias patógenas que con mayor frecuencia se aíslan de los alimentos

2.8.1 *Escherichia coli*

Escherichia coli coloniza el intestino del hombre pocas horas después de su nacimiento, se considera parte de la biota normal, pero existen cepas patógenas que pueden causar daño intestinal, extraintestinal o ambos, produciendo diferentes síndromes entre ellos el síndrome diarreico³⁵. *Escherichia coli* y otras bacterias son necesarias para el funcionamiento correcto del proceso digestivo, además de ser responsables de producir vitaminas B y K³⁶.

Debido a su alta presencia en el intestino, la *E. coli* se utiliza como el indicador principal para detectar y medir la contaminación fecal en la evaluación de la inocuidad del agua y de los alimentos. Consideradas comensales inofensivos, las cepas de *E. coli* constituyen alrededor del 1% de la población microbiana normal del intestino. Si bien la mayoría de las cepas dentro del intestino son agentes patógenos comensales para el ser humano, otros son perjudiciales. Las *E. coli* patógenas se distinguen de otras *E. coli* por su capacidad de provocar graves enfermedades como resultado de su información genética para la producción de toxinas, capacidad de adhesión e invasión de células huéspedes, interferencia con el metabolismo celular y destrucción de tejidos³⁷.

De todas las especies, solamente *E. coli* tiene significación clínica ya que es responsable de casi todas las infecciones de importancia causadas por el género, en tanto que las otras especies explican menos del 1% de los aislamientos clínicos de éste en enfermedades humanas⁶.

Escherichia coli suele ser resistente a las temperaturas extremas y a los ácidos débiles. En el laboratorio, por mutación, un bajo porcentaje de cepas puede tener perdida la capacidad de fermentar la lactosa, o lo hace tan lentamente al punto de no ser detectada dentro de los períodos normales de incubación utilizados⁶.

2.8.1.1 Estructura antigénica

En 1944, Kauffman propuso un esquema para la clasificación de *E. coli* utilizando sueros de conejos inmunizados con las variedades de los antígenos O (somático), H (flagelar) y K (capsular). El antígeno O es un polisacárido termoestable, que forma parte del lipopolisacárido (LPS) presente en la membrana externa de la bacteria. El antígeno K corresponde al polisacárido capsular que envuelve a la bacteria. Actualmente se conocen un total de 185 antígenos somáticos, 56 flagelares y 60 capsulares. La combinación específica de los antígenos O y H define el serotipo de una bacteria, en tanto que la identificación del antígeno somático hace referencia al serogrupo de la cepa de *E. coli*³⁶.

La determinación del perfil antigénico de las diferentes cepas sirve para relacionar un tipo antigénico particular con alguna de las formas diarreicas producidas por *E. coli*. La

determinación de los antígenos O y H se realiza por técnicas de aglutinación, mientras que la identificación del antígeno K se realiza por contrainmunolectroforesis⁶.

2.8.1.2 Clasificación

Desde el punto de vista clínico, *E. coli* se puede dividir en tres grupos: Cepas comensales; cepas patógenas extraintestinales (ECPEX) y cepas patógenas intestinales, entéricas o diarreogénicas⁶.

a) Cepas comensales:

Las cepas comensales de *E. coli* constituye una parte esencial de la flora intestinal en humanos sanos, con efectos beneficiosos para la salud. *E. coli* coloniza el tracto gastrointestinal a las pocas horas de vida del niño y establece con el huésped una relación estable de mutuo beneficio, adaptándose a una coexistencia pacífica, suprimiendo el crecimiento de las especies bacterianas dañinas y sintetizando cantidades importantes de vitaminas.

b) Cepas extraintestinales (ECPEX):

Estas cepas también forman parte de la flora fecal normal humana pero, a diferencia de las comensales, poseen factores de virulencia que les permiten provocar infecciones extraintestinales; causando la mayoría de las infecciones urinarias, intraabdominales, neumonías, osteomielitis, bacteriemias y meningitis del recién nacido.

c) Cepas enteropatógenas (ECE):

Son patógenos obligados, raramente encontradas en la flora fecal de huéspedes sanos y productoras de gastroenteritis si un huésped sin contacto previo las ingiere en cantidad suficiente.

Las cepas de *Escherichia coli* causantes de diarrea se han agrupado en seis tipos patógenos, cada uno definido por sus propiedades de virulencia: 1) *E. coli* enterotoxigénica (ETEC); 2) *E. coli* enterohemorrágica (EHEC); 3) *E. coli* enteropatógena (EPEC); 4) *E. coli* enteroinvasora (EIEC); 5) *E. coli* enteroagregante (EAEC) y 6) *E. coli* difusamente adherente (DAEC2)^{35,36}. Las cepas de ETEC raras veces producen manifestaciones extraintestinales. De estas cepas, sólo ETEC, EPEC, EHEC y EIEC han sido implicadas en enfermedades por consumo de alimentos o agua contaminados⁶.

2.8.2 *Salmonella* spp.

Es una bacteria patógena para el hombre y muchos animales, produce una enfermedad de origen alimentario conocido como salmonelosis, que se presenta en forma esporádica y de brotes. Es la causa más común de ETA en diversos países³³. *Salmonella* es una bacteria que está propagada en los intestinos de las aves, reptiles y mamíferos y puede propagarse a los seres humanos a través de toda una serie de alimentos diferentes de origen animal⁴.

Los miembros del género *Salmonella* son bacilos Gram-negativos, anaerobios facultativos, no esporulados, generalmente móviles por flagelos peritricos (excepto *Salmonella gallinarum* y *S. pullorum*), indol negativos y lisina positivos. No fermentan la

lactosa (excepto *S. enterica* subesp. *arizonae* y *S. enterica* subesp. *diarizonae*), pero si fermentan glucosa con producción de gas (excepto *Salmonella typhi*)⁶.

Salmonella es una bacteria no muy resistente a las condiciones ambientales, en especial a la luz solar intensa, desecación, concentraciones elevadas de sal o altas temperaturas. Pese a esto, una vez que se encuentra en el medio ambiente puede sobrevivir en el agua, suelo y superficies inanimadas desde días hasta meses; y en las heces desde meses hasta años debido a su rápida adaptación al medio donde habita⁶.

2.8.2.1 Estructura antigénica³⁸

Básicamente la estructura antigénica de *Salmonella* es similar a la de otras enterobacterias, con dos clases de antígenos principales presentes; antígenos O (somáticos) y antígenos H (flagelares). En algunas cepas se encuentra un tercer tipo como antígeno de superficie, siendo análogo funcionalmente a los antígenos K de otros géneros; ya que anteriormente se pensó, que se relacionaba con la virulencia, éste antígeno se denominó antígeno VI.

Antígenos O: Son los antígenos de la pared bacteriana, de naturaleza polisacárida. Existen numerosos antígenos O, a pesar de ello son los factores O principales, los que sirven para caracterizar los diferentes tipos antigénicos, (Por ejemplo O4: grupo B, O9: grupo D). **Antígenos H:** Son antígenos constituidos por una proteína, la flagelina, cuya composición en aminoácidos es constante para un tipo antigénico determinado. La mayoría de las cepas del género *Salmonella* pueden expresar las dos especificidades de

su antígeno H (difásicos), sin embargo, existen algunas que pueden expresar solamente una sola, ya sea la uno o la dos (monofásicas).

Antígenos k: El único de este tipo que se conoce en *Salmonella* es el existente en *S. typhi*, *S. paratyphi* y *S. dublin*. La presencia de este antígeno hace imposible la aglutinación de sueros anti O. La expresión de este factor depende de al menos dos genes (ViA + ViB); deben existir ambos en la bacteria para que dicha expresión tenga lugar.

2.8.3 *Shigella*

Shigella es una bacteria altamente enteroinvasiva³⁹ y existen varios tipos de la bacteria *Shigella*, como⁴⁰:

- La *Shigella sonnei*, también llamada *Shigella* del "grupo D", es responsable de la mayoría de los casos de shigelosis en los Estados Unidos.
- La *Shigella flexneri*, o *Shigella* del "grupo B", causa casi todos los demás casos.
- La *Shigella dysenteriae*, o *Shigella* del "grupo A", es rara en los EE.UU., pero puede llevar a brotes mortales en países en desarrollo.

Las personas infectadas con la bacteria la excretan en sus heces, las cuales pueden propagar la bacteria al agua o a los alimentos, o directamente a otra persona. Recibir tan sólo un poquito de la bacteria *Shigella* en la boca es suficiente para causar infección. Los brotes de shigelosis están asociados con condiciones sanitarias deficientes, agua y alimentos contaminados, al igual que condiciones de vida en hacinamiento⁴⁰.

La transmisión es fecal-oral directa o indirecta de un paciente o de un portador. La infección puede surgir después de ingerir 10 a 100 células. Los principales causantes de

la transmisión son las personas que no se lavan las manos ni se limpian las uñas minuciosamente después de la defecación, de esta manera diseminan la infección por contacto físico directo o indirecto al contaminar los alimentos. También las moscas pueden transportar microorganismos a un alimento no refrigerado en el cual se multiplican hasta constituir un inóculo infectante³³.

2.8.3.1 Estructura antigénica

La estructura antigénica de *Shigella* se caracteriza por presentar antígeno somático "O" y pueden o no poseer antígeno K. Cada serogrupo puede subdividirse en tipos, sobre la base de variantes del antígeno O, y estos serotipos se designan mediante números arábigos. Se caracteriza porque produce acción citotóxica, enterotóxica y neurotóxica³⁹.

2.8.4 Enterobacter

Los *Enterobacter spp.* son facultativamente anaeróbica bacilos gramnegativos, 0,6-1 m de diámetro y 1,2 a 3 m de largo, móviles mediante flagelos peritricos y tienen 1 clase de fimbrias. Producen ácido tras la fermentación de glucosa, son rojo de metilo negativa, y Voges Proskauer - positiva, con una temperatura de crecimiento óptima de 30 ° C. 80% están encapsulados⁴¹.

La transmisión es por contacto directo o indirecto de las superficies mucosas con agente infeccioso (por ejemplo, las bacterias pueden transferir de las manos contaminadas en las unidades neonatales o urinarios contaminados) o, en el caso de la flora endógena, a través de la transferencia a los sitios adyacentes, susceptibles, estériles del cuerpo. *Enterobacteriaceae* también se puede propagar a través de la vía fecal-oral⁴¹.

Enterobacter spp. se encuentran comúnmente en el suelo y el agua; *E. cloacae* y *E. aerogenes* pueden habitar los intestinos de los seres humanos y animales, y también se pueden encontrar en las aguas residuales⁴¹. *E. aerogenes* también se ha encontrado en los productos lácteos⁴².

2.8.5 *Yersinia*

El género *Yersinia* pertenece a la familia *Enterobacteriaceae* y comprende siete especies. Las especies *Y. pestis*, *Y. pseudotuberculosis* y ciertos serotipos de *Y. enterocolitica* son patógenos para el ser humano. *Yersinia pestis* es la causa de la peste bubónica y se transmite por contacto con roedores y sus pulgas. *Yersinia enterocolitica* penetra en las células de la mucosa intestinal y produce úlceras en el íleo terminal. La yersiniosis se manifiesta generalmente en forma de gastroenteritis aguda con diarrea, fiebre y dolor abdominal. Otra manifestación clínica es la formación de «bubones» (inflamación dolorosa de los ganglios linfáticos o linfadenomegalia). Las yersinias se transmiten por vía fecal-oral y se considera que la fuente de infección principal son los alimentos, en particular la carne y los productos cárnicos, la leche y los productos lácteos. También puede producirse infección por ingestión de agua contaminada⁴³.

La infección más a menudo adquiere por el consumo de alimentos contaminados, especialmente de productos de cerdo crudos o poco cocidos. La preparación de los intestinos de cerdo primas puede ser particularmente riesgoso. De vez en cuando la infección por *Y. enterocolitica* se produce después del contacto con animales infectados. En raras ocasiones, puede ser transmitida como un resultado de la bacteria que pasa de las heces o dedos sucios de una persona a la boca de otra persona. Esto puede suceder cuando los hábitos básicos de higiene y lavado de manos son inadecuadas⁴⁴.

2.9 Ecología y alimentos implicados (queso fresco, carne molida y fresa)

Una persona puede comer diferentes tipos de alimentos en una sola comida. Para los científicos que estudian las fuentes de alimentos responsables de enfermedades, sería más sencillo si comiéramos alimentos uno a la vez, como comer una manzana por sí mismo. Pero a menudo mezclamos muchos ingredientes diferentes juntas de muchos tipos de alimentos y comemos juntos como un plato, como un pastel de manzana hecho con harina, las especias y el azúcar. Es importante clasificar los alimentos en formas que sean útiles a los organismos que investigan los brotes, regular la seguridad de los alimentos, e informar a los consumidores. Las industrias que producen alimentos también encuentran esto útil. CDC (Center for Disease Control and Prevention, en español Centro de Control de Enfermedades y Prevención) ha desarrollado una lista básica de 17 categorías de alimentos, también llamados commodities, que son agrupaciones lógicas basadas en la naturaleza de la fuente de alimentos, como pescado, carne o verduras de hoja (Ver figura 3)⁴⁵.

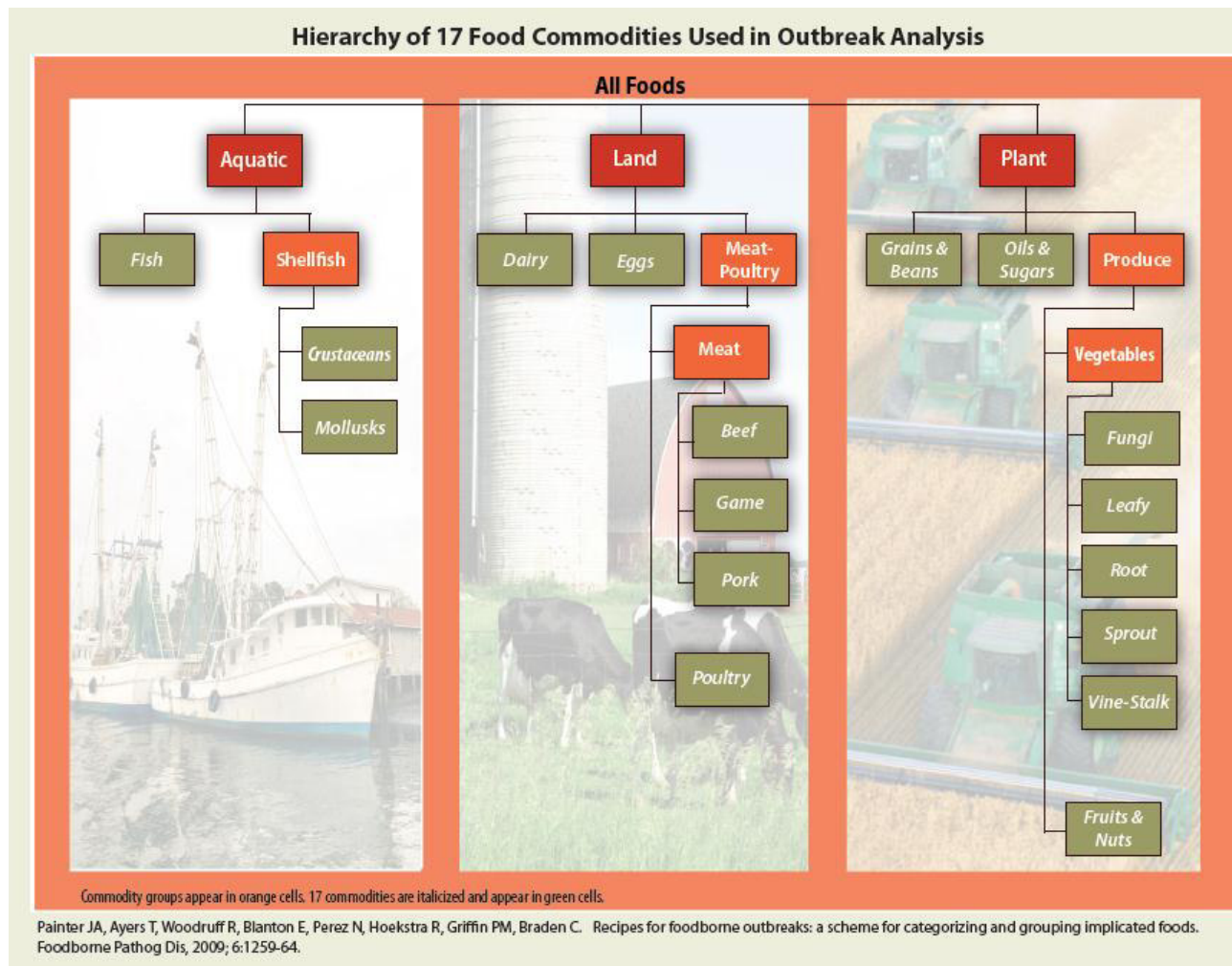


Figura 3: Jerarquía de 17 Alimentos básicos utilizados en el análisis del brote⁴⁵.

La determinación de las fuentes de enfermedades transmitidas por alimentos es una parte importante para la identificación de oportunidades de mejora en la seguridad alimentaria. Tener una idea más clara de la relación entre los alimentos contaminados y las enfermedades apoya la seguridad alimentaria a lo largo de toda la cadena de producción de alimentos-de los campos donde se cultivan los alimentos a las tablas de cortar en la cocina⁴⁵.

Prevenir la presencia de patógenos es primordial para asegurar la calidad y la seguridad de los alimentos. En la gran mayoría de ocasiones, el motivo de una infección alimentaria es una mala praxis en la manipulación de los alimentos. Vegetales que no se lavan de

forma adecuada, comida elaborada con manos sucias o una mala higiene de los utensilios de cocina son los factores más destacados. Las bacterias son los patógenos más conocidos en la contaminación alimentaria, son los más habituales y los más estudiados. Se conocen sus debilidades y sus fortalezas, se sabe cómo actúan y cómo se multiplican⁴⁶.

Las bacterias pueden causar al consumidor infección e intoxicación, son dos consecuencias diferentes. La infección se produce por la ingesta de alimentos contaminados con bacterias vivas que entran en el huésped y provocan la enfermedad. La intoxicación, en cambio, aparece cuando se ingieren alimentos que antes se han contaminado con bacterias que producen toxinas, y estas últimas son las que causan la enfermedad. Sin embargo, el denominador común de todas ellas son los síntomas gastrointestinales que producen: dolor abdominal, náuseas, vómitos, diarreas, calambres, fiebre, etc⁴⁶.

Si bien el suministro de alimentos en los Estados Unidos está entre los más seguros del mundo, el gobierno federal estima que hay alrededor de 48 millones de casos de enfermedades transmitidas por los alimentos anualmente, lo que equivale a que se enferme 1 de cada 6 estadounidenses. Y anualmente, estas enfermedades tienen como resultado 128.000 hospitalizaciones y 3.000 muertes⁴⁷. El cuadro muestra los patógenos más comunes transmitidos por los alimentos⁴⁸.

Tabla 2: Las principales enterobacterias patógenas transmitidos por los alimentos.

Enterobacterias patógenas	Conceptos básicos	Fuentes	Síntomas	Incubación	Duración
<i>Escherichia coli</i> (<i>E. coli</i>) patogénica	Grupo de bacterias que puede producir diversas toxinas mortales.	Carne de res (hamburguesas que no estén bien cocidas o crudas), productos frescos no cocidos, leche cruda, jugo sin pasteurizar y agua contaminada.	Calambres estomacales agudos, diarrea con sangre y náuseas. También puede manifestarse como una diarrea sin sangre o ser asintomática. Información que debe conocer: Puede provocar daños permanentes en los riñones, los cuales pueden producir la muerte en niños pequeños.	Normalmente, 3 a 4 días después de la ingestión, pero se puede producir entre 1 y 10 días después de consumir comida contaminada.	5 a 8 días

Tabla 2: Las principales enterobacterias patógenas transmitidos por los alimentos (continuación).

Enterobacterias patógenas	Conceptos básicos	Fuentes	Síntomas	Incubación	Duración
<i>Salmonella enteritidis</i>	Bacteria que puede infectar los ovarios de gallinas aparentemente saludables e internamente los huevos antes de que sean puestos.	Huevos crudos o que no estén bien cocidos, carne de res, pollo, pescados y mariscos crudos, leche cruda, productos lácteos y productos frescos.	Diarrea, fiebre, vómitos, dolor de cabeza, náuseas y calambres estomacales. Información que debe conocer: Los síntomas pueden ser más graves en grupos en riesgo, como por ejemplo las mujeres embarazadas.	12 a 72 horas después de consumir comida contaminada.	4 a 7 días
<i>Salmonella typhimurium</i>	Algunas cepas de esta bacteria, como por ejemplo, la DT104, son resistentes a varios antibióticos.	Carne de res, pollo, pescados y mariscos crudos, leche cruda, productos lácteos y productos frescos.	Diarrea, fiebre, vómitos, dolor de cabeza, náuseas y calambres estomacales. Información que debe conocer: Los síntomas pueden ser más graves en grupos en riesgo, como por ejemplo las mujeres embarazadas.	12 a 72 horas después de consumir comida contaminada.	4 a 7 días

Tabla 2: Las principales enterobacterias patógenas transmitidos por los alimentos (continuación).

Enterobacterias patógenas	Conceptos básicos	Fuentes	Síntomas	Incubación	Duración
<i>Shigella</i>	<p>Bacteria que se transmite fácilmente de persona a persona a través de la comida, como consecuencia de una higiene deficiente, especialmente, por lavarse mal las manos.</p> <p>Solamente los seres humanos son portadores de esta bacteria.</p>	Ensaladas, productos lácteos, ostras crudas, carne molida de res, pollo y agua sucia.	Diarrea, fiebre, calambres estomacales, vómitos y deposiciones con sangre.	1 a 7 días después de consumir comida contaminada.	5 a 7 días
<i>Yersinia enterocolitica</i>	Bacteria que provoca yersiniosis, una enfermedad que se caracteriza por diarrea o vómitos.	Carne de res y pescados y mariscos crudos, productos lácteos, productos frescos y agua no tratada.	<p>Fiebre, diarrea, vómitos y dolor de estómago.</p> <p>Información que debe conocer: Los síntomas pueden ser graves en los niños.</p>	1 a 2 días después de consumir comida contaminada.	1 a 2 días

III. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 MATERIALES Y MÉTODOS

3.1.1 Material Biológico

- Cárnicos: carne molida
- Lácteos: Queso fresco
- Frutas: Fresa (*Fragaria vesca*)

3.1.2 Tamaño de muestra y muestreo

Se recolectaron 50 muestras; las cuales correspondieron a 17 muestras de queso fresco, 17 muestras de carne molida y 16 muestras de fresa. Se realizaron visitas interdiarias por semana al mercado, recolectándose en las visitas 500 g de queso fresco, 250 g de carne molida y 1000 g de fresa, sin embargo para el análisis solo se usaron 10 g de cada muestra. Se muestreó en el siguiente orden: queso fresco, carne molida y fresa; los primeros muestreos de cada tipo de alimento fueron de 5 muestras; y el último fue de 2 (en queso fresco y carne molida) y 1 (en fresa). Cada muestreo se realizó utilizando la técnica de muestreo aleatorio simple (un tipo de muestreo probabilístico).

Las muestras fueron adquiridas en el mercado mayorista La Parada ubicado en las intersecciones de las avenidas Bausate y Meza, San Pablo, Humboldt y Aviación, distrito de La Victoria, Lima, Perú entre la quincena de marzo y la

quincena junio del 2012. En este mercado existían aproximadamente 25 puestos de venta de cada tipo de alimento muestreado.

3.1.3 Transporte de muestras

Las muestras fueron recolectadas en bolsas de plásticas en el mercado mayorista La Parada. Usando la técnica de muestreo aleatorio simple se realizó el muestreo en horas de la mañana, por ser la hora de mayor afluencia por los consumidores tanto finales y revendedores.

Posteriormente, las muestras colocadas en bolsas de plásticas tal como son entregadas por el vendedor al consumidor, se transportó en una caja de conservación con geles de refrigeración hacia el laboratorio de análisis. Se codificó adecuadamente las muestras y se registró en la ficha de colección de datos.

3.1.4 Lugar de ejecución

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del departamento académico de Microbiología y Parasitología Básica y Aplicada de la Facultad de Farmacia y Bioquímica - UNMSM.

3.1.5 Diseño

Estudio transversal –Descriptivo- Observacional.

3.1.6 Metodología de trabajo

3.1.6.1 Recuento de *Enterobacteriaceae* según ICMSF⁴⁹

3.1.6.1.1 Preparación y dilución de los homogenizados de muestras

1. Después de la toma de muestras, se comenzó a trabajar en el laboratorio de análisis antes que se cumpliera 1 hora del muestreo.
2. Se pesó en el vaso tarado del homogeneizador mecánico (licuadora), 10 g representativos de la muestra total.
3. Se añadió un volumen de diluyente agua peptonada igual a 9 veces de la muestra. Así se obtuvo una dilución 10^{-1} .
4. Se licuó por un periodo no mayor a 2,5 minutos.
5. Se mezcló el contenido del vaso por agitación y se pipeteó, alícuotas de 1 mL en tubos conteniendo 9 mL de diluyente; y se obtuvo una dilución 10^{-2} .
Con cada una de las diluciones llevar a cabo los pasos 6 y 7 que se señalan a continuación.
6. Se mezcló cuidadosamente aspirando 10 veces con una pipeta estéril.
7. Se transfirió, con una misma pipeta, 1 mL a otro tubo de dilución, conteniendo 9 mL de diluyente, y mezclar utilizando una nueva pipeta. Así se obtuvo una dilución 10^{-3} .
8. Se repitió los pasos 6 y 7 para obtener la dilución 10^{-4} .

3.1.6.1.2 Recuento por siembra en placa

1. Se pipeteó en placas de Petri 1 mL de las diluciones 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} y 10^{-4} del alimento, utilizando dos placas por cada dilución.
2. Rápida mente, se añadió con una pipeta a cada placa 15 mL de agar Mac Conkey más glucosa fundido a 44-46°C.
3. Se mezcló inmediatamente el inóculo con el agar. Para ello, se realizó los siguientes movimientos sucesivamente: (a) de balanceo cinco veces en una dirección, (b) rotatorio en el sentido de la agujas del reloj, cinco veces, (c) de balanceo, cinco veces en una dirección en ángulo a la anterior y (d) rotatorio en el sentido contrario a las agujas del reloj.
4. Después de que se haya solidificado el agar con el inóculo, se cubrió su superficie añadiendo a cada placa unos 10 mL de agar Mac Conkey más glucosa, fundido y templado a 44-46°C.
5. Cuando se solidificó esta segunda capa de agar, se incubó las placas invertidas a 35-37°C durante 24 horas.
6. Transcurrido el tiempo de incubación, se contó las colonias eligiendo las placas que presentaron entre 30 y 300 colonias.
7. Se calculó el número de unidades formadoras de colonias de presuntas *Enterobacteraceae* por gramo de muestra.

Luego se aisló colonias sospechosas de *Enterobacteraceae* y se sembró las colonias sospechosas en agar TSA (trypticase soy agar, en español agar

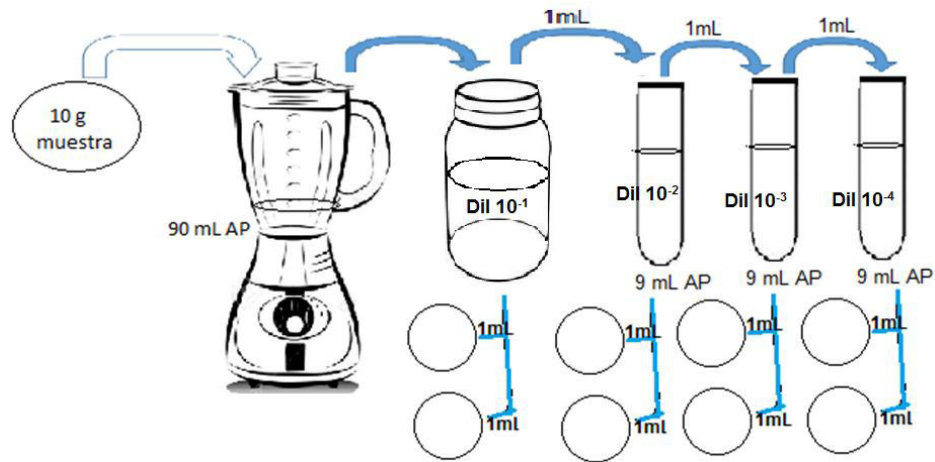
tripticase de soya). A partir de la siembra en TSA se realizó las pruebas de identificación bioquímica

3.1.6.2 Pruebas de identificación bioquímica⁵⁰

La identificación de las cepas presuntivas aisladas de pertenecer a la familia *Enterobacteriaceae* se determinó mediante la realización de una batería de pruebas bioquímicas que mide las características metabólicas de las *Enterobacteriaceae*:

1. Las colonias sospechosas fueron repicadas en medios de diferenciación bioquímica como el agar triple azúcar hierro (TSI), agar lisina hierro (LIA), agar citrato de Simmons y el agar movilidad, indol y ornitina (MIO).
2. Se incubó a 35 a 37⁰ C por 18 a 24 horas.
3. Finalmente, se procedió a realizar las lecturas de las reacciones bioquímicas producidas.

Diagrama de flujo de detección y recuento de enterobacterias



Incorporar a cada placa Agar Mac Conkey + glucosa (15 mL).

Una vez solidificado el agar con el inóculo, cubrir la superficie de cada placa añadiendo 10 mL de agar Mac Conkey + glucosa.

Incubar a 35⁰-37⁰C por 24 horas.

Conteo de colonias

Aislamiento de colonias sospechosas de *Enterobacteriaceae* en agar TSA.

Pruebas de identificación bioquímica

Sembrar las colonias sospechosas

TSI

MIO

LIA

Agar Citrato de Simmons

Incubar a 35⁰-37⁰C por 24 horas.

Lecturas de las reacciones bioquímicas

IV. RESULTADOS

El análisis de los resultados se determinó a partir de 50 muestras de alimentos frescos (17 (34%) muestras de queso fresco, 17 (34%) muestras de carne molida y 16 (32%) muestras de fresa) procedentes del mercado mayorista más importante de Lima La Parada. En la tabla 3 se describe la denominación o codificación de las muestras a analizar.

Tabla 3. Denominación de muestras recolectadas del mercado mayorista

La Parada LIMA - PERÚ

MUESTRAS		
QUESO FRESCO	CARNE MOLIDA	FRESA
Q1	C11	F35
Q2	C12	F36
Q3	C13	F37
Q4	C14	F38
Q5	C15	F39
Q6	C16	F40
Q7	C17	F41
Q8	C18	F42
Q9	C19	F43
Q10	C20	F44
Q26	C21	F45
Q27	C22	F46
Q28	C23	F47
Q29	C24	F48
Q30	C25	F49
Q31	C33	F50
Q32	C34	



Figura 4. Porcentaje de muestras recolectadas en queso fresco, carne molida y fresa fresca

LECTURA DEL RECuento DE ENTEROBACTERIAS

El recuento de colonias *Enterobacteriaceae* sospechosas en el queso fresco, la carne molida y la fresa recolectada del mercado mayorista La Parada se describen a continuación en la tabla 4.

Tabla 4. Lectura de recuento de enterobacterias

MUESTRAS	Dilución 10^{-1}	Dilución 10^{-2}	Dilución 10^{-3}	Dilución 10^{-4}	Resultado
Q1	309	150	43	27	15×10^3 ufc/g
Q2	180	100	20	0	10×10^3 ufc/g
Q3	516	404	199	90	20×10^4 ufc/g
Q4	200	121	25	20	20×10^2 ufc/g
Q5	305	161	98	26	16×10^3 ufc/g
Q6	364	144	76	16	14×10^3 ufc/g
Q7	200	180	21	19	20×10^2 ufc/g
Q8	400	232	136	28	23×10^3 ufc/g
Q9	800	134	128	29	13×10^3 ufc/g
Q10	368	320	212	199	21×10^4 ufc/g
Q26	112	100	27	24	11×10^3 ufc/g
Q27	372	85	43	16	85×10^2 ufc/g
Q28	350	220	86	29	22×10^3 ufc/g
Q29	340	320	132	69	13×10^3 ufc/g
Q30	960	360	300	198	30×10^4 ufc/g
Q31	800	304	200	126	20×10^4 ufc/g
Q32	456	390	90	60	90×10^3 ufc/g
C11	528	368	246	114	25×10^4 ufc/g
C12	472	324	80	61	80×10^3 ufc/g
C13	624	400	240	116	24×10^4 ufc/g
C14	960	824	434	228	23×10^5 ufc/g
C15	1926	1248	470	240	24×10^5 ufc/g
C16	342	330	98	77	10×10^4 ufc/g
C17	391	378	155	93	16×10^4 ufc/g
C18	340	105	98	18	11×10^3 ufc/g
C19	408	284	118	23	28×10^3 ufc/g
C20	62	2	0	0	62×10^1 ufc/g
C21	381	320	159	107	16×10^4 ufc/g
C22	340	140	32	0	14×10^3 ufc/g
C23	410	320	180	95	18×10^3 ufc/g
C24	784	576	166	107	17×10^4 ufc/g
C25	480	390	152	86	15×10^4 ufc/g
C33	312	206	192	18	21×10^3 ufc/g
C34	310	188	196	24	19×10^3 ufc/g
F35	173	28	27	1	17×10^1 ufc/g
F36	0	70	14	1	70×10^2 ufc/g
F37	151	12	2	1	15×10^2 ufc/g
F38	81	11	10	1	81×10^1 ufc/g
F39	10	33	17	10	33×10^2 ufc/g
F40	820	928	468	231	23×10^5 ufc/g
F41	312	280	264	21	28×10^3 ufc/g
F42	94	86	24	10	94×10^1 ufc/g
F43	174	24	12	9	17×10^2 ufc/g
F44	75	71	25	20	75×10^1 ufc/g
F45	720	560	420	280	28×10^5 ufc/g
F46	544	323	99	88	99×10^3 ufc/g
F47	580	140	44	11	14×10^3 ufc/g
F48	348	127	84	23	13×10^3 ufc/g
F49	174	155	24	10	17×10^2 ufc/g
F50	375	125	92	29	13×10^3 ufc/g

IDENTIFICACIÓN DE ENTEROBACTERIAS MEDIANTE PRUEBAS BIOQUÍMICAS

Al analizar el queso fresco, la carne molida y la fresa recolectada del mercado mayorista La Parada se halló que la enterobacteria predominante identificada es *Escherichia coli* con 66%, seguida de *Enterobacter* con 12%, *Shigella* con 4% y otras no identificadas con un 18% (Ver figura 5).

En el queso fresco recolectado del mercado mayorista La Parada se halló que la enterobacteria predominante identificada es *Escherichia coli* con 47%, seguida de *Enterobacter* con 29% y otras no identificadas con un 24% (Ver figura 6).

En la carne picada recolectado del mercado mayorista La Parada se halló que la enterobacteria predominante identificada es *Escherichia coli* con 82%, seguida de *Enterobacter* con 6% y otras no identificadas con un 12% (Ver figura 7).

En la fresa recolectada del mercado mayorista La Parada se halló que la enterobacteria predominante identificada es *Escherichia coli* con 69%, seguida de *Shigella* con 12% y otras no identificadas con un 19% (Ver figura 8).

Dentro de los alimentos analizados del mercado mayorista La Parada se halló a la carne molida como el alimento con más predominancia de *Escherichia coli* (Ver figura N° 9).

Tabla 5. Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas

MUESTRAS	TSI					LIA			MIO			CIT	Resultado
	A/K	A/A	K/A	Gas	H ₂ S	K/A	K/K	H ₂ S	Movilidad	Indol	Ornitina		
Q1	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Enterobacter
Q2	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
Q3	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
Q4	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	----
Q5	-	+	-	+	-	-	-	-	+	-	+	-	----
Q6	-	-	-	+	-	-	+	-	+	-	+	-	----
Q7	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
Q8	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
Q9	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
Q10	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
Q26	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
Q27	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
Q28	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Enterobacter
Q29	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Enterobacter
Q30	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Enterobacter
Q31	-	+	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-	----
Q32	+	-	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	Enterobacter
C11	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C12	+	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	Enterobacter
C13	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C14	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C15	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	----
C16	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C17	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C18	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C19	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C20	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C21	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C22	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C23	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C24	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C25	-	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	----
C33	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
C34	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F35	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	----
F36	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F37	-	-	+	-	-	-	+	-	+	+	+	+	----
F38	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F39	-	-	+	-	-	-	+	-	+	-	+	+	----
F40	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	Shiguelia
F41	+	-	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-	Shiguelia
F42	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F43	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F44	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F45	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F46	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F47	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F48	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli
F49	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	Escherichia coli

F50	-	+	-	+	-	-	+	-	+	+	+	-	<i>Escherichia coli</i>
-----	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	---	-------------------------

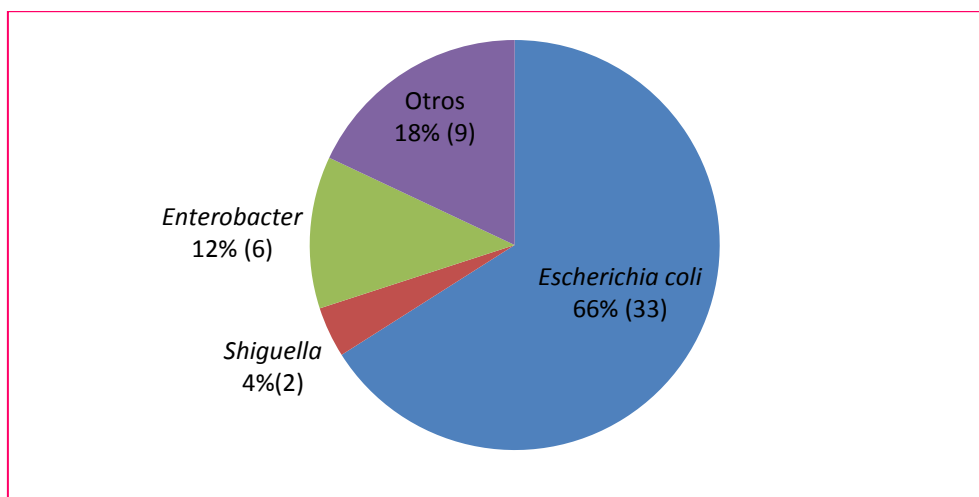


Figura 5. Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en queso fresco, carne molida y fresa fresca

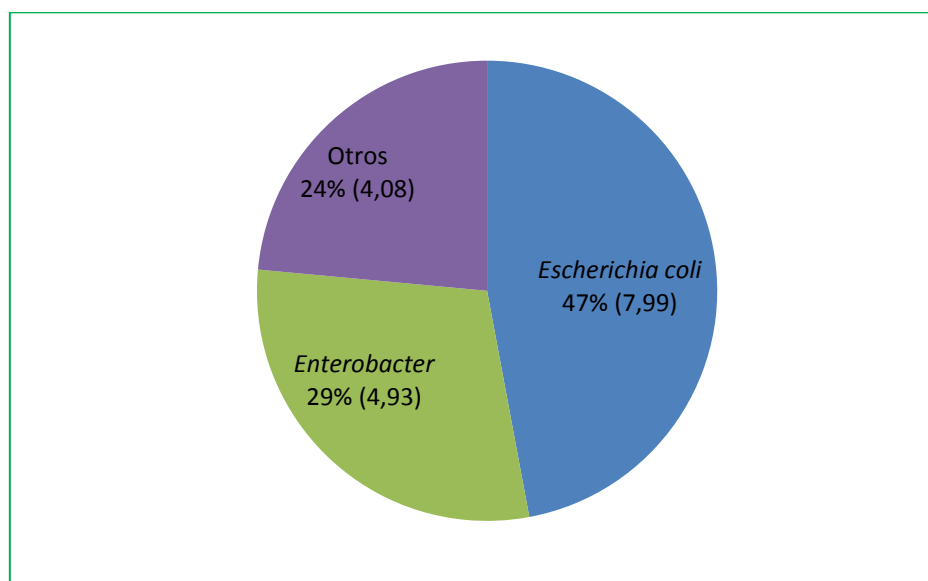


Figura 6. Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en queso fresco

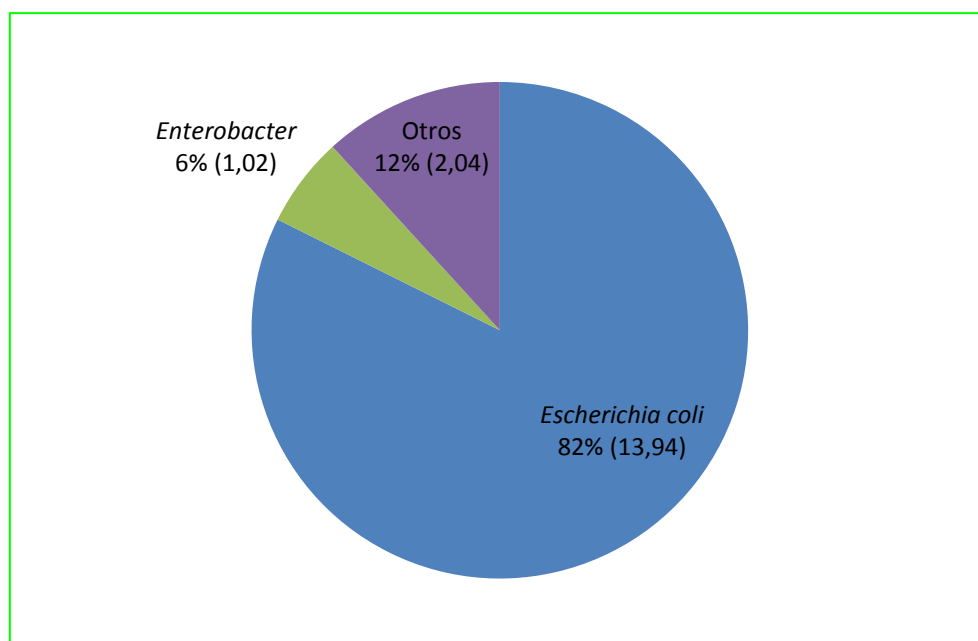


Figura 7. Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en carne molida

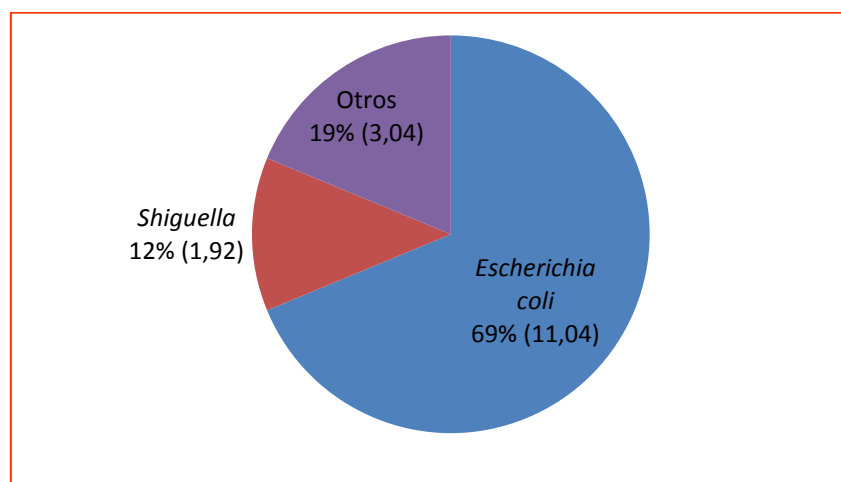


Figura 8. Identificación de enterobacterias mediante pruebas bioquímicas en fresa

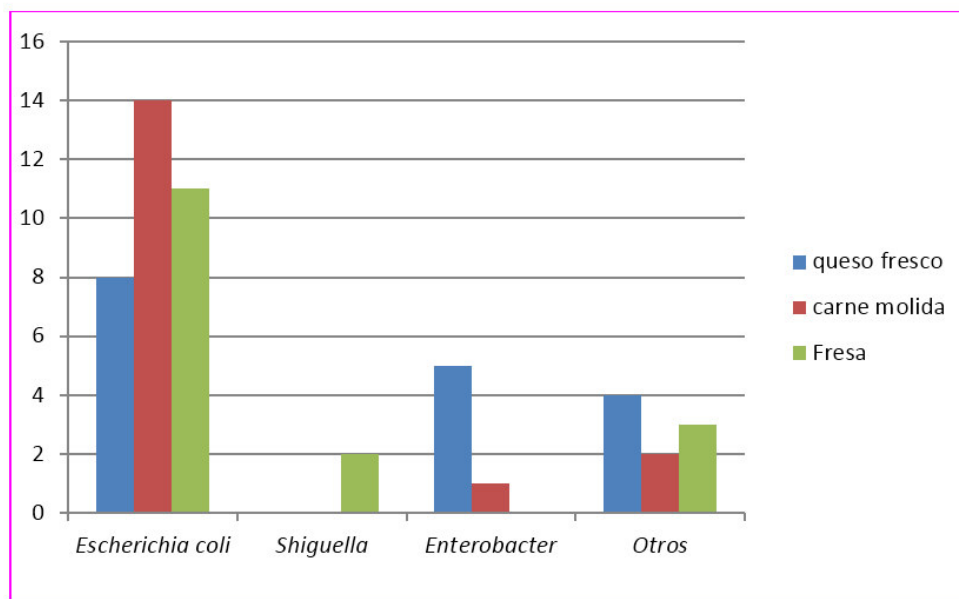


Figura 9. Identificación de enterobacterias Vs alimentos analizados

V. DISCUSIÓN

De acuerdo al estudio publicado en el 2003 sobre Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, constituyó aproximadamente la cuarta parte de las enterobacterias encontradas en las muestras de quesos ⁵; a diferencia de ello, en el presente estudio se encontró 66% de *Escherichia coli*, la cual fue la *Enterobacteriaceae* predominante en los tres alimentos analizados. Ante lo cual se podría decir que las condiciones de salubridad desde el 2003 a la fecha en que se llevo a cabo este trabajo no han sufrido mejora.

En el estudio publicado en el 2005 sobre Frecuencia de enterobacterias en verduras frescas de consumo crudo expendidas en cuatro mercados de Lima Metropolitana⁶, el mercado La Parada fue uno de los mercados que presentó mayor porcentaje de verduras contaminadas con coliformes fecales en niveles que excedieron los límites máximos recomendados según la ICMSF y el MINSA; y el 0,6% del total de verduras se detectó presencia de *E. coli* que excedían el límite permitido. De manera similar ocurrió en el presente estudio; en la cual se detectó 78% de coliformes. Ante lo cual se podría decir que el

consumidor esta expuesto aun riesgo de adquirir un EDA al consumir productos alimenticios que hubieran sido adquiridos en el mercado La Parada.

En el estudio publicado en el 2014 sobre Ocurrencia de *Enterobacteriaceae* en carne se indentificó que 54% de las bacterias aisladas fueron *E. coli*. Similar resultados se obtuvieron en el presente trabajo, ya que el alimento en el que predominó *E. coli* (82%) fue la carne molida. El elevado porcentaje de *E. coli* en la carne puede deberse a la contaminación que puede ocurrir por la ruptura del intestino o el uso de agua contaminada durante de la desvisceración y sacrificio del animal.

En un estudio realizado en el 2010 en Huacho – Perú²⁰ determinó que la fresa fue uno de las frutas que presentó mayor contaminación por *E. coli* y que estaba por encima de los límites permitidos por MINSA/DIGESA; y que este indicador de que el mercado de Huacho presentaba condiciones higiénicas inadecuadas podría deberse a que se habia popularizado la práctica de utilizar aguas de río contaminadas para irrigar los productos agrícolas o para lavarlos antes de llevarlos al mercado. En el presente trabajo también se halló niveles elevados de *E. coli* en fresa recolectada de La Parada; éste elevado porcentaje podría deberse a las condiciones que se señala en el estudio del 2010.

VI. CONCLUSIONES

Las conclusiones del presente estudio son las siguientes:

- 1) Del total de muestras analizadas entre muestra de carne molida, fresa y queso fresco 66% tienen *Escherichia coli*, 12% *Enterobacter*, 4% *Shigella* y 18% otras enterobacterias.
- 2) Se determinó que dentro de las *Enterobacteriaceae* un 78% corresponde a coliformes y 22% no coliformes.
- 3) Dentro de los 3 tipos de alimentos analizados: la carne molida tiene 82% de *Escherichia coli*, 6% *Enterobacter* y 12% otras enterobacterias; la fresa 69% de *Escherichia coli*, 12% *Shigella* y 19% otras enterobacterias; y queso fresco 47% de *Escherichia coli*, 29% *Enterobacter* y 24% otras enterobacterias. Se observa que en la carne molida prevalece *Escherichia coli* (82%).

VII. RECOMENDACIONES

- 1) Realizar un efectivo lavado y desinfección de los alimentos frescos para consumo crudo o derivados lácteos, evitando la transmisión de microorganismos patógenos.
- 2) Supervisar el desarrollo de adecuadas prácticas de manipulación y expendio de alimentos frescos, especialmente de consumo crudo, en los centros de abasto.
- 3) Ante los evidentes resultados de que la frecuencia de enterobacterias en los alimentos queso fresco, carne molida y fresa es alta, se recomienda informar a la población del riesgo de adquirir una EDA al consumir un alimento contaminado, y capacitar al consumidor sobre las medidas preventivas como lavado de alimentos frescos, cocer bien los alimentos, la higiene personal, etc buscando así disminuir el riesgo de una EDA.

VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Soto CM. Enfermedades Transmitidas por Alimentos, una importante causa de morbilidad en nuestro País [Internet]. Ministerio de Salud Perú. 2012 [citado 23 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.dge.gob.pe/boletin.php>
2. Enfermedades transmitidas por alimentos [Internet]. MedlinePlus - National Library of Medicine. 2014 [citado 23 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/foodborneillness.html>
3. Instituto Nacional de Salud. Protocolos en vigilancia de salud pública, Enfermedades Trasmitidas por Alimentos [Internet]. Instituto Nacional de Salud Colombia. 2014 [citado 1 de noviembre de 2014]. Recuperado a partir de: <http://www.ins.gov.co/lineas-de-accion/Subdireccion-Vigilancia/sivigila/Protocolos%20SIVIGILA/PRO%20Enfermedades%20Trans.%20por%20alimentos.pdf>
4. Centers for Disease Control and Prevention. Infecciones transmitidas por los alimentos: Información General [Internet]. CDC - Infecciones transmitidas por los alimentos. 2009 [citado 23 de noviembre de 2015].

- Recuperado a partir de:
http://www.cdc.gov/nczved/es/enfermedades/infecciones_alimentos/
5. Cristóbal DR, Maurtua TD. Evaluación bacteriológica de quesos frescos artesanales comercializados en Lima, Perú, y la supuesta acción bactericida de *Lactobacillus* spp. *Rev Panam Sal Publ.* 2003;24:157-63.
 6. Muñoz JS, Vilca ML, Ramos DD, Lucas LJ. Frecuencia de enterobacterias en verduras frescas de consumo crudo expendidas en cuatro mercados de Lima Metropolitana. 2005 [citado 23 de noviembre de 2015]; Recuperado a partir de: <http://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/cybertesis/744>
 7. Miranda M, Aramburú A, Junco J, Campos M. Situación de la calidad de agua para consumo en hogares de niños menores de cinco años en Perú, 2007-2010. *Rev Peru Med Exp Salud Pública.* 2010;27(4):506-11.
 8. Quispe MJ, Sánchez PV. Evaluación Microbiológica y Sanitaria de puestos de venta ambulatoria de alimentos del distrito de Comas, Lima-Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2001;18(1-2):27-32.
 9. Zamudio ML, Meza A, Bailón H, Martínez UJ, Campos J. Experiencias en la vigilancia epidemiológica de agentes patógenos transmitidos por alimentos a través de electroforesis en campo pulsado (PFGE) en el Perú. *Rev Peru Med Exp Salud Publica.* 2011;28(1):128-35.
 10. La Parada produce 30 toneladas diarias de basura. *El Comercio* [Internet]. 14 de septiembre de 2012 [citado 24 de noviembre de 2015]; Recuperado a partir de: http://elcomercio.pe/lima/sucesos/parada-produce-30-toneladas-diarias-basura_1-noticia-1469556

11. EsSalud. Boletín epidemiológico N°02-2012. Boletín Epidemiológico EsSalud [Internet]. Febrero de 2012 [citado 24 de noviembre de 2015];2. Recuperado a partir de: http://www.essalud.gob.pe/noticias/boletinepidem_2012_2.pdf
12. Indicadores trazadores: Enfermedad Diarréica Aguda [Internet]. Ministerio de Salud Perú. 2014 [citado 24 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: http://www.app.minsa.gob.pe/bsc/Detalle_IndBSC.asp?lcind=66&lcobj=1&lcper=1&lcfreq=11/9/2014
13. Domínguez W. Estudio de caso–Enfermedades Transmitidas por Alimentos en Honduras [Internet]. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2009 [citado 23 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.fao.org/3/contents/61cc444e-f708-54ae-a5fe-cafae39532aa/i0480s05.pdf>
14. García GR, Chávez EJ, Mejía CA, Duran C. Microbiological determinations of some vegetables from the Xochimilco zone in Mexico City, México. *Rev Latinoam Microbiol.* 2002;44(1):24-30.
15. Puig PY, Leyva CV, Rodríguez SA, Carrera VJ, Molejón VP, Pérez MY, et al. Calidad microbiológica de las hortalizas y factores asociados a la contaminación en áreas de cultivo en La Habana. *Rev Habanera Cienc Médicas.* 2014;13(1):111-9.
16. Cano TM. Estrategias biológicas para el manejo de enfermedades en el cultivo de fresa (*Fragaria* spp.). Diciembre de 2013 [citado 24 de noviembre

- de 2015];7. Recuperado a partir de:
<http://www.scielo.org.co/pdf/rcch/v7n2/v7n2a11.pdf>
17. Estadística: Porcentaje de Ingreso [Internet]. Empresa Municipal de Mercado S.A (EMMSA). 2014 [citado 24 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de:
<http://www.emmsa.com.pe/index.php/estadisticas/porcentaje-de-ingreso-por-giro>
18. CENTRUM Católica. Mercado de la fresa [Internet]. CENTRUM al día Boletín electrónico de negocios. 2007 [citado 24 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de:
http://www.centrum.pucp.edu.pe/centrumaldia/mercados/mercado_fresas_2007.htm
19. Agroexportaciones del Perú crecieron 34% en primer semestre, según AGAP [Internet]. Gestión. 2014 [citado 24 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://gestion.pe/economia/agroexportaciones-peru-crecieron-34-primer-semester-segun-agap-2105051>
20. Farromeque MM del R, Leòn MB, Lizardo AA. Coliformes fecales y E. coli en fresa, melón, lechuga y rabanito que se expeden en el mercado Centenario. Huacho. 2010. INFINITUM. [Internet]. 2014 [citado 24 de noviembre de 2015];1(1). Recuperado a partir de:
<https://web.unjfsc.edu.pe/revistas/index.php/Infinitum/article/download/78/77>
21. Jay JM, Loessner MJ, Golden DA. Microbiología moderna de los alimentos. Zaragoza: Acribia; 2009. 788 p.

22. Halász A, Baráth Á, Simon SL, Holzapfel W. Biogenic amines and their production by microorganisms in food. Trends Food Sci Technol. 1994;5(2):42-9.
23. Consumo de carne [Internet]. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2014 [citado 25 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/background.html>
24. Composición de la carne [Internet]. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2015 [citado 25 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: http://www.fao.org/ag/againfo/themes/es/meat/backgr_composition.html
25. Zhao C, Ge B, De Villena J, Sudler R, Yeh E, Zhao S, et al. Prevalence of *Campylobacter* spp., *Escherichia coli*, and *Salmonella* serovars in retail chicken, turkey, pork, and beef from the Greater Washington, DC, area. Appl Environ Microbiol. 2001;67(12):5431-6.
26. Paterson DL. Resistance in gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. Am J Med. 2006;119(6):S20-8.
27. Kilonzo NA, Rotich E, Nahashon SN. Evaluation of drug-resistant Enterobacteriaceae in retail poultry and beef. Poult Sci. 2013;92(4):1098-107.
28. Puerta GA, Mateos RF. Enterobacterias [Internet]. 2010.^a ed. España: Elsevier; Recuperado a partir de:

http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/pdf/Enterobacterias_Medicine2010.pdf

29. Ocaña CA, Rocchi M, Gasparotto A, Contrero I, Navarro M, Factorovich S, et al. Bacteriemia por enterobacterias en adultos en un hospital universitario: análisis de cinco años. *Rev Argent Microbiol.* 2007;39(1):38-43.
30. Forbes B. Diagnóstico Microbiológico. 12a ed. España: Ed. Médica Panamericana; 2009. 1050 p.
31. Murray PR, Rosenthal KS, Pfaller MA. Microbiología Médica + StudentConsult + StudentConsult en español. 7a ed. España: Elsevier España; 2013. 966 p.
32. Cabello RR. Microbiología y parasitología humana: Bases etiológicas de las enfermedades infecciosas y parasitarias. 3a ed. España: Ed. Médica Panamericana; 2007. 1814 p.
33. Caballero TÁ. Temas de Higiene de los Alimentos [Internet]. La Habana: Ciencias Médicas; 2008 [citado 25 de noviembre de 2015]. 379 p. Recuperado a partir de: http://es.slideshare.net/Quimio_Farma/temas-de-higiene-de-los-alimentos
34. Baylis C, Uyttendaele M, Joosten H, Davies A. The Enterobacteriaceae and their significance to the food industry. *Enterobact Their Significance Food Ind* [Internet]. 2011 [citado 25 de noviembre de 2015]; Recuperado a partir de: <http://www.cabdirect.org/abstracts/20143006754.html>

35. Castro A. Bacteriología médica basada en problemas. 2a ed. México: Editorial El Manual Moderno; 2014. 364 p.
36. Molina LJ, Eslava CC. Infecciones por Escherichia coli - Recursos en Bacteriología - UNAM [Internet]. [citado 25 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/escherichia-coli.html>
37. Prevención de la Escherichia coli en los alimentos [Internet]. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. 2011 [citado 25 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.fao.org/food-chain-crisis/resources/news/detail/es/c/80952/>
38. Parra M, Durango J, Máttar S. Microbiología, patogénesis, epidemiología, clínica y diagnóstico de las infecciones producidas por Salmonella. Rev MVZ Córdoba [Internet]. 2002 [citado 26 de noviembre de 2015];7(2). Recuperado a partir de: <http://revistas.unicordoba.edu.co/ojs/index.php/mvz/article/view/44>
39. Molina LJ, Uribarren BT. Infecciones por Shigella spp.-Recursos en bacteriologia-UNAM [Internet]. Universidad Nacional Autónoma de México. 2015 [citado 26 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.facmed.unam.mx/deptos/microbiologia/bacteriologia/shigella.htm>
|

40. Shigelosis [Internet]. MedlinePlus - Biblioteca Nacional de Medicina de los EE.UU. [citado 26 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <https://www.nlm.nih.gov/medlineplus/spanish/ency/article/000295.htm>
41. Public Health Agency of Canada. Enterobacter: Pathogen safety data sheet -Infectious substances [Internet]. 2011 [citado 26 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.phac-aspc.gc.ca/lab-bio/res/psds-ftss/enterobacter-eng.php>
42. Abbott SL. Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. En: Manual of Clinical Microbiology [Internet]. 10.^a ed. Washington; 2011 [citado 26 de noviembre de 2015]. p. 282. Recuperado a partir de: <http://www.asmscience.org/content/book/10.1128/9781555816728.chap37>
43. WHO | Guidelines for drinking-water quality, fourth edition [Internet]. 2011 [citado 23 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: http://www.who.int/water_sanitation_health/publications/2011/dwq_guidelines/en/
44. Centers for Disease Control and Prevention. Yersinia: General Information [Internet]. CDC- National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases. [citado 26 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.cdc.gov/nczved/divisions/dfbmd/diseases/yersinia/>
45. Centers for Disease Control and Prevention. Overview of Attribution of Foodborne Illness: Estimates of Foodborne Illness in the United States:

- [Internet]. CDC. 2014 [citado 26 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.cdc.gov/foodborneburden/attribution/overview.html>
46. Gimferrer M. N. Las siete bacterias más comunes en alimentos. EROSKI CONSUMER [Internet]. 26 de abril de 2014 [citado 26 de noviembre de 2015]; Recuperado a partir de: <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/sociedad-y-consumo/2013/02/04/215614.php>
47. Organismos que causan enfermedades transmitidas por los alimentos en los EE.UU. - Lo Que Usted Necesita Saber [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2015 [citado 26 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/Consumers/ucm250640.htm>
48. Seguridad alimentaria para futuras mamás: Profesionales de la medicina - Los 14 patógenos principales transmitidos por los alimentos [Internet]. U.S. Food and Drug Administration. 2014 [citado 26 de noviembre de 2015]. Recuperado a partir de: <http://www.fda.gov/Food/ResourcesForYou/HealthEducators/ucm091976.htm>
49. International Commission on Microbiological Specifications for Food (ICMSF). Microorganismos de los alimentos I: Su significado y métodos de enumeración. 2.^a ed. Zaragoza: Acribia; 1999. p. 147- 150.
50. Mossel DAA, Mengerink WHJ, Scholts HH. Use of a modified MacConkey agar medium for the selective growth and enumeration of Enterobacteriaceae. J Bacteriol. 1962;84(2):381.

IX. ANEXOS

ANEXO 1. MATERIALES DE LABORATORIO

9.1 Materiales de vidrio y otros

- a. Matraces de Erlenmeyer: 250mL, 500 mL
- b. Pipetas de vidrio de 2 a 5mL
- c. Tubos de ensayo 13x100
- d. Placas Petri 15x90mm
- e. Asa de inoculación
- f. Gradilla
- g. Micropipetas automáticas
- h. Centrífuga
- i. Baño María

9.2 Medios de cultivo

- Agar Mac Conkey (MERCK)
- Agar Trypticase Soya (MERCK)
- Agar TSI (MERCK)
- Agar LIA (MERCK)
- Medio MIO (MERCK)
- Agar Citrato de Simmons (MERCK)

9.3 Reactivos

- Reactivo de KOVACS (MERCK)

ANEXO 2. MEDIOS DE CULTIVO^{49,50}

AGAR MAC CONKEY MAS GLUCOSA

Fórmula

Fórmula (en gramos por litro)		Instrucciones
Peptona	17.0 g	Suspender 50 g del polvo de agar Mac Conkey más 10g de glucosa por litro de agua destilada. Reposar 5 minutos y mezclar hasta uniformar. Calentar suavemente y hervir 1 a 2 minutos hasta disolver.
Polipectona	3.0 g	
Lactosa	10.0 g	
Mezcla de sales biliares	1.5 g	
Cloruro de sodio	5.0 g	
Agar	13.5g	

Rojo neutro	3 mL	Esterilizar en autoclave a 121°C durante 15 minutos.
Cristal violeta	1 mL	
Glucosa	10 g	
pH final: 7.1 ± 0.2		